

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

СВІРСЬКА СОФІЯ ПЕТРІВНА

УДК 615.322:582.948.2

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ ВОЛОВИК

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ГРИЦИК АНДРІЙ РОМАНОВИЧ
Івано-Франківський національний
медичний університет,
завідувач кафедри фармації.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
МУЗИЧЕНКО ВОЛОДИМИР ПАНАСОВИЧ
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
професор кафедри фармацевтичної, органічної і
біоорганічної хімії;

доктор фармацевтичних наук, професор
КОВАЛЬОВА АЛЛА МИХАЙЛІВНА
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри фармакогнозії.

Захист відбудеться «14» листопада 2019 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий «10» жовтня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Значну увагу в сучасних наукових дослідженнях зосереджено на лікарських рослинах та лікарській рослинній сировині, що містять різноманітні класи діючих речовин та мають багатовіковий досвід використання у народній медицині. До таких рослин відносять види роду Воловик (*Anchusa* L.) родини Шорстколисті (*Boraginaceae*). В минулому воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.) був офіціальним видом, траву застосовували під назвою *Herba Lingulae bovis*; корені, траву та квітки – під назвою *Radix, Herba et Flos Buglossi*. На сьогодні види роду Воловик є неофіціальними, проте їх широко використовують в народній медицині багатьох країн. У світі зареєстровано 301 вид та підвид роду Воловик разом із підвидами інших близькоспоріднених родів, синоніми яких мають назву «*Anchusa*». На території України зростає 11 видів роду Воловик. Рослини роду *Anchusa* L. – це одно- та багаторічні трав'янисті рослини, які переважно ростуть на піщаних і забур'янених місцях в лісостепових, степових районах та на Поліссі.

Завдяки вмісту різних класів БАР рослини роду Воловик проявляють широкий спектр біологічної дії: протизапальну, противиразкову, антибактеріальну, ранозагоювальну, антиоксидантну, ферменто- та гормонорегулюючу тощо.

Критичний аналіз сучасних наукових першоджерел засвідчив, що в Україні детальні дослідження морфологічної та анатомічної будови рослин роду Воловик, біологічних особливостей їх зростання, ресурсів, хімічного складу та фармакологічної активності практично відсутні. Водночас, результати закордонних досліджень вказують на актуальність застосування в медицині видів роду Воловик та потребу в їх подальшому фармакогностичному дослідженні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету: «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (№ державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (№ державної реєстрації 0118U003809).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи стали фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик, розробка методик стандартизації сировини та встановлення можливості отримання лікарських засобів на їх основі.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати такі завдання:

- провести попереднє фітохімічне дослідження трави та коренів воловика лікарського і воловика високого;
- виділити та ідентифікувати індивідуальні біологічно активні речовини сировини;
- встановити склад груп БАР воловика лікарського і воловика високого;
- визначити кількісний вміст БАР у досліджуваній сировині;

- розробити та обґрунтувати технологічні параметри одержання екстрактів та лікарської форми на їх основі, провести стандартизацію та фармакологічний скринінг одержаних засобів;

- вивчити умови зростання, сировинні запаси та встановити параметри інтродукції видів;

- виявити основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки видів;

- встановити показники доброякісності сировини та розробити проекти МКЯ на сировину та субстанцію, інструкції із заготівлі та сушіння сировини.

Об'єкт дослідження: комплексне фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик, субстанцій та препарату на їх основі.

Предмет дослідження: вивчення біологічно активних речовин трави та коренів видів роду Воловик, вибір оптимальних параметрів отримання екстрактів, стандартизація одержаних екстрактів, встановлення їх біологічної активності, розробка лікарської форми, встановлення запасів сировини, інтродукція воловика лікарського в умовах Прикарпаття, розробка МКЯ на сировину та екстракт.

Методи дослідження. Опис та ідентифікацію рослин роду Воловик проводили за допомогою морфологічних та анатомічних методів дослідження. Для встановлення якісного складу і кількісного вмісту БАР сировини та екстрактів використовували методи ПХ, ТШХ, адсорбційної хроматографії на колонках силікагелю та поліаміду, ГХ/МС, ВЕРХ, атомно-абсорбційну спектрофотометрію, титриметрію, гравіметрію та спектрофотометрію. Для встановлення біологічного, експлуатаційного запасів та можливого щорічного обсягу заготівлі рослинної сировини використовували ресурсознавчі методи. Для встановлення параметрів інтродукції використовували методи кліматичних аналогів, обліку досвіду акліматизації за минулий час, дедуктивний та еколого-системний екстраполяційний методи. Мікробіологічні та фармакологічні дослідження (гостра токсичність, протизапальна, противиразкова, ранозагоювальна дія) проводили методами *in vitro* та *in vivo*. Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 Т.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» та «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів».

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження воловика лікарського та воловика високого, в результаті якого встановлено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук, карбонових кислот, вуглеводів, тритерпеноїдів, стероїдів, макро- та мікроелементів у сировині.

Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено 20 сполук, які ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли і 1 азотовмісна сполука.

Вперше методом ВЕРХ у траві та коренях воловика лікарського визначено 14 сполук фенольної природи: 3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів.

Вперше методом ГХ/МС досліджено компонентний склад трави воловика лікарського, виявлено та визначено вміст 4 фітостеролів – це ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол, стигмастерол та 7 жирних кислот:

2 поліненасичені – лінолева та ліноленова, 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова; у леткій фракції виявлено та визначено вміст 12 сполук, серед них: 2 кетони, 2 похідних сесквітерпену, 2 спирти, 1 ароматична сполука, 2 аліфатичні вуглеводні та 3 альдегіди.

Вперше методом атомно-абсорбційної спектروفотометрії у траві та коренях воловика лікарського та воловика високого виявлено та встановлено вміст 19 макро- та мікроелементів. Вміст важких металів знаходиться у дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

Вперше визначено кількісний вміст груп БАР у сировині воловика лікарського та воловика високого, заготовлених із різних місць зростання. Встановлено, що трава воловика лікарського та воловика високого містить 3,13 – 3,81 % та 2,23 – 2,8 % суми поліфенолів; таніни – 1,57 – 2,14 % та 1,2 – 1,43 %; окиснювані феноли – 1,85 – 3,53 % та 2,23 – 2,31 %; флавоноїди – 0,42 – 0,45 % та 0,31 – 0,39 %; гідроксикоричні кислоти – 1,34 – 2,19 % та 1,4 – 1,71 %; органічні кислоти – 2,05 – 2,26 % та 1,86 – 2,39 %; полісахариди – 6,57 – 8,4 % та 5,75 – 6,58 %; слиз – 2,08 – 4,12 % та 0,77 – 1,02 % відповідно. Корені воловика лікарського та воловика високого містять 2,48 – 2,65 % та 2,2 % суми поліфенолів; таніни – 1,01 – 1,19 % та 1,03 %; окиснювані феноли – 2,54 – 3,0 % та 1,83 %; флавоноїди – 0,19 – 0,21 % та 0,19 %; гідроксикоричні кислоти – 1,09 – 1,11 % та 0,96 %; органічні кислоти – 1,39 – 1,49 % та 1,41 %; полісахариди – 0,71 – 0,72 % та 0,56 %; слиз – 1,19 – 1,28 % та 1,21 % відповідно. Вперше із воловика лікарського виділено фракції водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлози А і Б, встановлено їх кількісний вміст та мономерний склад.

Вперше розроблено технологічні параметри отримання екстрактів трави воловика лікарського та досліджено фармакологічну активність одержаних екстрактів. Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 125931 «Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю» (25.05.2018 р.). Вперше розроблено склад, запропоновано технологію виготовлення, встановлено показники якості та фармакологічну дію мазі на основі отриманого екстракту.

Вперше встановлено місця зростання воловика лікарського та воловика високого у 4 областях України, складені характеристики виявлених фітоценозів та встановлено сировинні запаси видів, вивчено параметри інтродукції воловика лікарського в умовах Прикарпаття.

Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження надземних органів воловика лікарського і воловика високого та встановлено їх діагностичні ознаки. Вивчено числові показники доброякісності трави воловика лікарського, встановлено параметри стандартизації; на основі моніторингу за якісними показниками сировини встановлено термін її придатності.

Практичне значення одержаних результатів. В результаті проведеного морфолого-анатомічного дослідження видів роду Воловик флори України встановлено основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки надземних органів воловика лікарського та воловика високого, які є критеріями для диференціювання цих видів.

На основі проведених фітохімічних та фармакологічних досліджень, доведено можливість застосування трави воловика лікарського як лікарської рослинної сировини. Одержано екстракт трави воловика лікарського та розроблено склад і технологію мазі з екстрактом воловика лікарського. Розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та інструкції із заготівлі та сушіння трави воловика лікарського.

За результатами роботи видано монографію «Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія». Матеріали наукових досліджень впроваджено в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО імені П. Л. Шупика, кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», кафедри фармакогнозії Одеського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії і технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти (акти впровадження від 12.12.2017; 18.12.2017; 19.12.2017; 20.12.2017; 21.12.2017; 25.12.2017; 27.12.2017; 27.12.2017; 16.01.2018; 22.01.2018; 22.01.18; 01.02.2018; 14.02.2018; 15.02.2018; 23.02.2018; 26.02.2018 року відповідно), практичну роботу ТОВ «Фітолук» та випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія» (акти впровадження від 14.03.2018 та 19.03.2018 року відповідно).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються. Результати, опубліковані у співавторстві, використані у роботі тільки в межах особистого внеску.

Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук, встановлено основні групи БАР та їх кількісний вміст у траві та коренях видів роду Воловик, виділено та ідентифіковано індивідуальні сполуки трави воловика

лікарського, проведено морфолого-анатомічне дослідження та встановлено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини, що використано при її стандартизації. Розроблено параметри одержання екстрактів із трави воловика лікарського, проведено їх стандартизацію, розроблено склад та технологію мазі з одержаним екстрактом і досліджено їх фармакологічну активність, встановлено запаси сировини видів роду Воловик.

Дисертантом самостійно одержано та здійснено аналіз результатів експериментальних досліджень і систематизовано їх у вигляді таблиць, рисунків, проектів МКЯ та фотознімків. В опублікованих наукових працях особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено на науково-практичній інтернет-конференції «Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування» (Харків, 2011); 81-й науково-практичній конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012); міжнародній науково-практичній конференції «Фітоапітерапія: здобутки і перспективи», (Ужгород, 2012); III міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2012); VIII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Aktualne problemy nowoczesnych nauk – 2012» (Przemyśl, 2012); 82-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013); XIII international scientific conference «Modern science in Eastern Europe» (Morrisville, USA, 2017); VI-й міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій» (Полтава, 2017).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових робіт, у тому числі 6 статей у наукових фахових виданнях, з яких 1 стаття в іноземному виданні, що входить до наукометричних баз, 1 патент України на корисну модель, 1 монографія, 4 статті та 4 тез доповідей у матеріалах конференцій.

Обсяг та структура дисертації. Дисертацію викладено на 296 сторінках друкованого тексту, вона складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 20 додатків (65 с.). Список використаних джерел містить 253 найменування, з яких 128 кирилицею та 125 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин (огляд літератури). Наведено систематику, особливості морфології, поширення у світовій флорі та на території України, хімічний склад та фармакологічну дію видів роду *Anchusa* L. Вказано про досвід використання рослин роду Воловик у народній медицині та господарстві різних країн в минулому та в умовах сьогодення. На підставі отриманих аналітичних даних встановлено, що в Україні практично відсутні сучасні наукові дослідження морфологічної та анатомічної будови видів роду Воловик, біологічних особливостей їх зростання,

ресурсів, хімічного складу та фармакологічної активності, параметрів інтродукції рослин. В той же час результати закордонних наукових досліджень вказують на актуальність та потребу в подальшому фармакогностичному дослідженні *Anchusa L.*

Розділ 2. Об'єкти, матеріали та методи дослідження. Наведено дані про об'єкти дослідження, прилади, реактиви, хроматографічні системи та описи методик експериментальних досліджень. Сировину заготовляли у різні фази вегетації на території 4 областей – Івано-Франківської, Тернопільської, Закарпатської та Одеської у 2012 – 2017 рр. з урахуванням особливостей заготівлі і правил зберігання лікарських рослин та з умовою бережливого відношення до флори.

Розділ 3. Фітохімічне дослідження рослин роду Воловик. Розглянуто особливості якісного складу трави і коренів воловика лікарського та воловика високого. У сировині ідентифіковані фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти.

У результаті дослідження *фенольних сполук* методом ПХ у сировині воловика лікарського виявлено: 6 речовин у траві, 6 – у коренях; у сировині воловика високого виявлено: 5 – у траві та 4 – у коренях; за значенням *Rf* і забарвленням плям в УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами ці речовини ідентифіковані як флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

У результаті дослідження *низькомолекулярних карбонових кислот* методом ПХ у сировині воловика лікарського визначено: у траві 5 сполук, у коренях – 4; у сировині воловика високого: у траві 4 сполуки, у коренях – 3 сполуки.

У сировині воловика лікарського методом ПХ виявлено та ідентифіковано *амінокислоти*: у траві 8 амінокислот, з яких 6 є незамінними, у коренях 5 амінокислот, 4 з яких незамінні; у сировині воловика високого: у траві та коренях по 5 однакових амінокислот, 4 з яких є незамінними.

У результаті досліджень *гідроксикоричних кислот* з використанням методу ВЕРХ у траві воловика лікарського виявлено та встановлено вміст розмаринової, кавової та ферулової кислот, у коренях – розмаринової та кавової кислот; встановлено, що домінуючою сполукою є розмаринова кислота – 4558,86 мг/кг (0,46 %) та 1964,66 мг/кг (0,2 %) сухої сировини відповідно (рис. 1, 2).

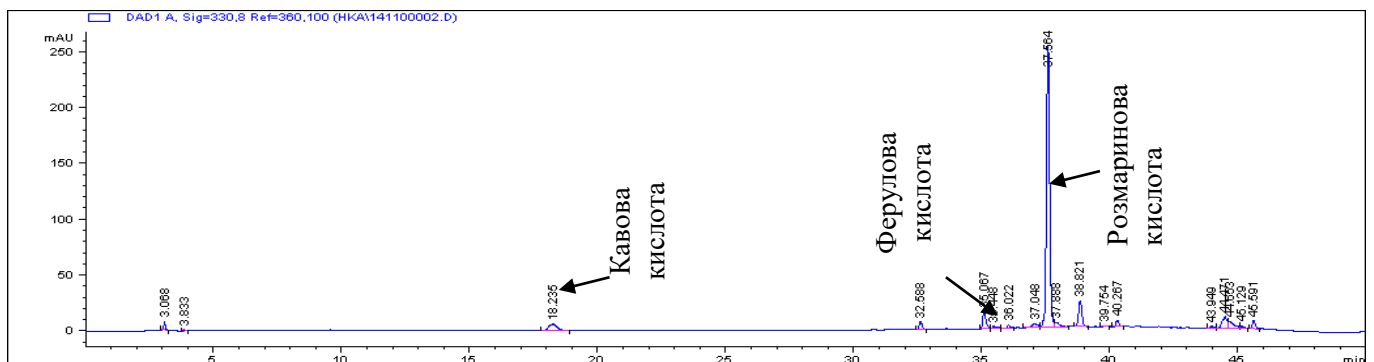


Рис. 1. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) гідроксикоричних кислот трави воловика лікарського ($\lambda = 330$ нм)

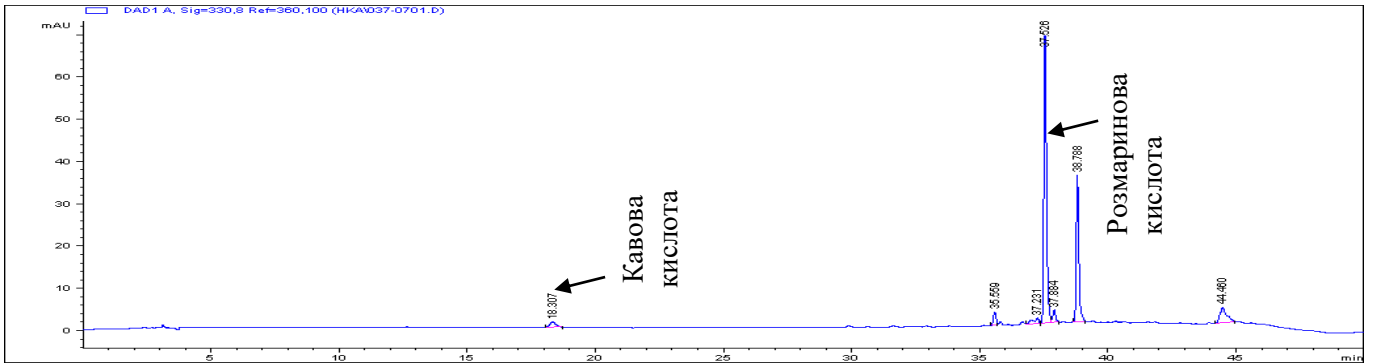


Рис. 2. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) гідроксикоричних кислот коренів воловика лікарського ($\lambda = 330$ нм)

У траві воловика лікарського ідентифіковані 3 *флавоноїди*: флаволи – апігенін, лютеолін; флавонол – ізокверцитрин; у коренях – 4 флавоноїди: флаволи – апігенін, лютеолін; флавоноли – кверцитрин, ізокверцитрин; домінуючою сполукою у траві воловика лікарського є ізокверцитрин – 256,0 мг/кг, у коренях – апігенін – 389,54 мг/кг сухої сировини.

У результаті дослідження *танінів* ідентифіковано 1 сполуку, яку віднесено до групи танінів, що гідролізуються, та 6 сполук, що віднесено до групи конденсованих танінів (катехінів). Домінуючою речовиною у траві та коренях воловика лікарського є епігалокатехін – 21864,28 мг/кг (2,2 %) та 29850,06 мг/кг (3,0 %) сухої сировини відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст танінів у сировині воловика лікарського

№ з/п	Сполука	Трава		Корені	
		мг/кг	%*	мг/кг	%*
<i>Таніни, що гідролізуються (похідні галової кислоти)</i>					
1.	Галова кислота	100,58	0,24	22,99	0,05
<i>Конденсовані таніни (похідні флаван-3-олу)</i>					
2.	Галокатехін	3811,20	9,03	1753,71	4,09
3.	Епігалокатехін	21864,28	51,79	29850,06	69,56
4.	Катехін	4355,38	10,32	1966,35	4,58
5.	Епікатехін	7092,19	16,80	3168,53	7,38
6.	Епікатехіну галат	1036,64	2,45	1673,1	3,90
7.	Катехіну галат	3954,41	9,37	4476,4	10,43
<i>Загальний вміст</i>		42214,68	100	42911,14	100

Примітка. * – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих танінів у сировині.

Методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено 20 сполук. Виділені сполуки ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей як: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли та 1 азотовмісна сполука. Фізико-хімічні властивості сполук, виділених з трави воловика лікарського, наведені в табл. 2.

Фізико-хімічні властивості сполук трави воловика лікарського

Сполука	Загальна формула	T _{пл.} , °C	УФ-спектр, λ max, нм	Система розчинників*	R _f в системах розчинників
1	2	3	4	5	6
<i>Фенолкарбонові кислоти</i>					
<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	C ₇ H ₆ O ₃	213 - 215	254	2 4	0,38 0,74
3,4,5-Тригідроксибензойна кислота (галова кислота)	C ₇ H ₆ O ₅	256 - 258	236, 276	2 4	0,45 0,65
3,4-Гідроксибензойна кислота (протокатехова кислота)	C ₇ H ₆ O ₄	196 - 199	217, 258, 295	2 4	0,42 0,86
<i>Гідроксикоричні кислоти</i>					
3-Метокси-4-гідроксикорична кислота (ферулова кислота)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	167 - 169	230, 291, 323	1 3 4	0,44 0,62 0,86
3,4-Дигідроксикорична кислота (кавова кислота)	C ₉ H ₈ O ₄	195 - розкл.	245, 299, 325	1 3 4	0,31 0,46 0,81
Естер кавової і 3,4-дигідроксифеніл молочної кислоти (розмаринова кислота)	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	171 - 175	220, 290, 326	1 4	0,42 0,89
<i>Флавоноїди</i>					
5,7, 4'-Тригідроксифлавоон (апігенін)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	345 - 347	268, 321	3 4	0,11 0,92
5,7,3',4'-Тетрагідроксифлавоон (лютеолін)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	327 - 329	252, 350	1 3 4	0,02 0,08 0,84
Кемпферол-3-глюкопіранозид (астрагалін)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	175 - 178	270, 375	1 3 4	0,19 0,43 0,68
Кверцетин-3-глюкопіранозид (ізокверцитрин)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	228 - 230	260, 360	1 3 4	0,18 0,36 0,58
Кверцетин-3-рамноглюкозид (рутин)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	189 - 192	257, 265, 360	1 3 4	0,32 0,50 0,47
3,5,7,3',4'-Пентагідроксифлаван (+)-катехін	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	175 - 177	196, 270	2 4	0,51 0,72

Продовж. табл. 2

1	2	3	4	5	6
<i>Тритерпеноїди</i>					
Урсолова кислота	$C_{30}H_{48}O_3$	284 - 286	310	7	0,39
				9	0,28
				10	0,58
Олеанолова кислота	$C_{30}H_{48}O_3$	306 - 308	310	7	0,44
				9	0,34
				10	0,67
Олеанол-21- глюкопіранозид	$C_{36}H_{58}O_{11}$	258 - 259	204	11	0,42
				12	0,32
				13	0,22
Олеанол-21- глюкопіранозидо- 3-ксилопіранозид	$C_{41}H_{64}O_{14}$	280 - 282	205	11	0,54
				12	0,52
				13	0,45
<i>Стероїди</i>					
β -Ситостерин	$C_{29}H_{50}O$	138 - 139	-	4	0,80
				6	0,36
<i>Азотовмісні сполуки</i>					
5-Уреїдогідантоїн (алантоїн)	$C_4H_6N_4O_3$	232 - 234	-	1	0,90
				4	0,33
<i>Хлорофіли</i>					
Хлорофіл <i>a</i>	$C_{55}H_{72}MgN_4O_5$	150 - 153	428, 660	5	0,90
				8	0,57
Хлорофіл <i>b</i>	$C_{55}H_{70}MgN_4O_6$	183 - 185	452, 642	5	0,93
				8	0,61

Примітка. *Системи розчинників: 1 – 2 % оцтова кислота; 2 – 5 % оцтова кислота; 3 – 15 % оцтова кислота; 4 – *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2); 5 – хлороформ / формаїд (25 %); 6 – метилкетон – *m*-ксилол (1:1) / формаїд; 7 – гексан – етилацетат (2:1); 8 – гексан – ацетон (6:2); 9 – хлороформ – етилацетат (9:1); 10 – бензол – ацетон (4:1); 11 – хлороформ – етанол – 15 % амоніак (7:3:1); 12 – *n*-бутанол – етанол – 15 % амоніак (18:3,5:18); 13 – *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:1).

У траві воловика лікарського методом ГХ/МС ідентифіковано та визначено вміст чотирьох *фітостеролів* (табл. 3).

Загальний вміст *фітостеролів* у траві воловика лікарського становить 0,032 % від маси сухої сировини. Найвищий вміст встановлено для ситостеролу – 133,08 мг/кг сухої сировини.

Таблиця 3

Фітостероли трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Сполука	Кількісний вміст	
			мг/кг	%*
1.	21,75	Кампестерол	104,79	32,95
2.	22,04	Стигмастерол	35,99	11,32
3.	22,55	Ситостерол	133,08	41,84
4.	22,71	Стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол	44,19	13,89
Загальний вміст фітостеролів:			318,05	100

Примітка. * – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих фітостеролів у сировині.

У результаті досліджень методом ГХ/МС у траві воловика лікарського ідентифіковано та встановлено вміст 7 жирних кислот, з них: 2 поліненасичені – лінолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова (табл. 4).

Таблиця 4

Жирні кислоти трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Назва кислоти		Формула	Кількісний вміст	
		Тривіальна	Систематична (IUPAC)		мг/кг	%*
1.	12,09	Пальмітинова	Гексадеканова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	2324,39	28,78
2.	15,84	Лінолева	<i>цис,цис</i> -9,12-Октадекадієнова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	1498,33	18,55
3.	15,99	γ -Ліноленова	<i>цис,цис,цис</i> -6,9,12-Октадекатрієнова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	2696,36	33,38
4.	16,59	Стеаринова	Октадеканова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	410,16	5,07
5.	20,84	Арахінова	Ейкозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	240,43	2,98
6.	24,79	Бегенова	Докозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	409,23	5,07
7.	28,47	Лігноцеринова	Тетракозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	498,38	6,17
Сума ненасичених жирних кислот:					4194,69	51,93
Сума насичених жирних кислот:					3882,59	48,07
Загальна сума жирних кислот:					8077,28	100

Примітка. * – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих жирних кислот у сировині.

Загальний вміст жирних кислот у траві воловика лікарського становить 0,81 % від маси сухої сировини. Переважаючою за вмістом серед жирних кислот у сировині є ліноленова кислота – 2696,36 мг/кг сухої сировини.

У леткій фракції трави воловика лікарського методом ГХ/МС встановлено вміст 12 сполук, з них: 4 кетони, 3 спирти, 3 альдегіди та 2 вуглеводні сполуки.

Серед спиртів – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, серед кетонів – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, серед альдегідів – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, серед аліфатичних вуглеводнів – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен (табл. 5).

Таблиця 5

Сполуки легкої фракції трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Сполука	Кількісний вміст	
			мг/кг сировини	%*
1.	3,01	2-Гептанон	19,55	13,21
2.	3,06	3-Гептанол	7,74	5,23
3.	3,12	2-Гептанол	9,30	6,28
4.	10,06	Тимол	29,81	20,14
5.	11,26	2,4,5-Триметилбензальдегід	9,90	6,69
6.	13,58	β -Іонон	7,83	5,28
7.	15,67	Гексадеканаль	10,79	7,29
8.	15,93	Лонгіфолен	3,32	2,25
9.	17,82	α -Гексацинамоновий альдегід	4,17	2,82
10.	19,23	Гексагідрофарнезилацетон	27,67	18,70
11.	20,30	Фарнезилацетон	11,78	7,96
12.	27,48	Октакозан	6,14	4,15
Загальний вміст легких сполук:			148,00	100

Примітка. * – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих летких сполук у сировині.

Загальний вміст ідентифікованих сполук легкої фракції трави воловика лікарського становить 0,015 %. Домінуючими сполуками є монотерпеновий фенол – тимол та похідне сесквітерпену – гексагідрофарнезилацетон – 29,81 мг/кг та 27,67 мг/кг сухої сировини відповідно.

Методом атомно-абсорбційної спектروفотометрії вивчено елементний склад сировини і встановлено вміст 19 макро- та мікроелементів У досліджуваній сировині виявлено значний вміст кальцію – 8111,18 – 8134,10 мг/кг та магнію – 1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27). Аналіз вмісту макро- і мікроелементів коренів воловика лікарського, воловика високого та аналіз ґрунтів, на яких зростали рослини, вказує, що для всіх досліджуваних зразків характерні незначні коливання рівня елементів.

Встановлено кількісний вміст груп БАР у траві та коренях воловика лікарського та воловика високого, заготовлених з різних місць зростання. Вміст суми поліфенолів і танінів визначали спектروفотометрично (ДФУ 2.0 Т.1) у перерахунку на пірогалол ($\lambda = 760$ нм), суми флавоноїдів – на ізокверцитрин ($\lambda = 410$ нм) та апігенін ($\lambda = 380$ нм), гідроксикоричних кислот – на розмаринову кислоту ($\lambda = 326$ нм).

Встановлено, що трава воловика лікарського містить 3,13 – 3,81 % суми поліфенолів від маси сухої сировини, трава воловика високого – 2,23 – 2,8 %; танінів – 1,57 – 2,14 % та 1,2 – 1,43 % відповідно; флавоноїдів – 0,42 – 0,45 % та 0,31 – 0,39 % відповідно; гідроксикоричних кислот – 1,34 – 2,19 % та 1,4 – 1,71 % відповідно. Корені воловика лікарського містять 2,48 – 2,65 % суми поліфенолів, корені воловика високого – 2,2 %; танінів – 1,01 – 1,19 % та 1,03 % відповідно; флавоноїдів – 0,19 – 0,21 % та 0,19 % відповідно; гідроксикоричних кислот – 1,09 – 1,11 % та 0,96 % відповідно.

Визначення вмісту окиснюваних фенолів та суми органічних кислот у сировині проводили титриметрично за фармакопейними методиками. Результати дослідження вказують, що трава воловика лікарського містить 1,85 – 3,53 % окиснюваних фенолів, трава воловика високого – 2,23 – 2,31 %; органічних кислот – 2,05 – 2,26 % та 1,86 – 2,39 % відповідно; корені воловика лікарського містять 2,54 – 3,0 % окиснюваних фенолів, корені воловика високого – 1,83 %; органічних кислот – 1,39 – 1,49 % та 1,41 % відповідно.

У результаті визначення вмісту полісахаридів та слизу гравіметричним методом встановлено, що трава воловика лікарського містить 6,57 – 8,4 % полісахаридів, воловика високого – 5,75 – 6,58 %; слизу – 2,08 – 4,12 % та 0,77 – 1,02 % відповідно. Корені воловика лікарського містять 0,71 – 0,72 % полісахаридів, воловика високого – 0,56 %; слизу – 1,19 – 1,28 % та 1,21 % відповідно.

Встановлено, що кількісний вміст груп БАР більше відрізняється за видами сировини і менше – за місцем зростання видів, тобто, накопичення фенольних сполук та низькомолекулярних карбонових кислот має виражену видову приуроченість.

Вміст водорозчинних полісахаридів у траві та коренях воловика лікарського становить 8,24 % та 0,72 %, пектинових речовин – 4,27 % та 0,14 %, геміцелюлози А – 32,29 % та 12,26 %, геміцелюлози Б – 6,09 % та 4,42 % від маси сухої сировини відповідно, що свідчить про значну відмінність вмісту фракцій вуглеводів у надземних та підземних органах воловика лікарського.

Встановлено залежність вмісту діючих речовин від фаз вегетації трави воловика лікарського, заготовленої у с. Вістова Калуського району Івано-Франківської області в 2017 р. (рис. 3). Поліфенольні сполуки та таніни максимально накопичуються у траві воловика лікарського у фазу бутонізації, окиснювані феноли, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та органічні кислоти – у фазу масового цвітіння, полісахариди – у фазу плодоношення, що є важливим критерієм при стандартизації сировини.

Розділ 4. Одержання, стандартизація екстракту воловика лікарського та розробка лікарської форми на його основі. Розроблено технологічні параметри екстракції БАР з трави воловика лікарського та проведено скринінгове дослідження фармакологічних ефектів одержаних екстрактів. Встановлено, що оптимальний ступінь подрібнення сировини – частки розміром 0,5 – 3 мм; екстрагенти – вода очищена, етанол 50 % і 70 %; оптимальне співвідношення сировина - екстрагент – 1:10; оптимальна тривалість разової екстракції – 30 хв; повноти екстракції БАР можна досягти шляхом трикратного екстрагування.

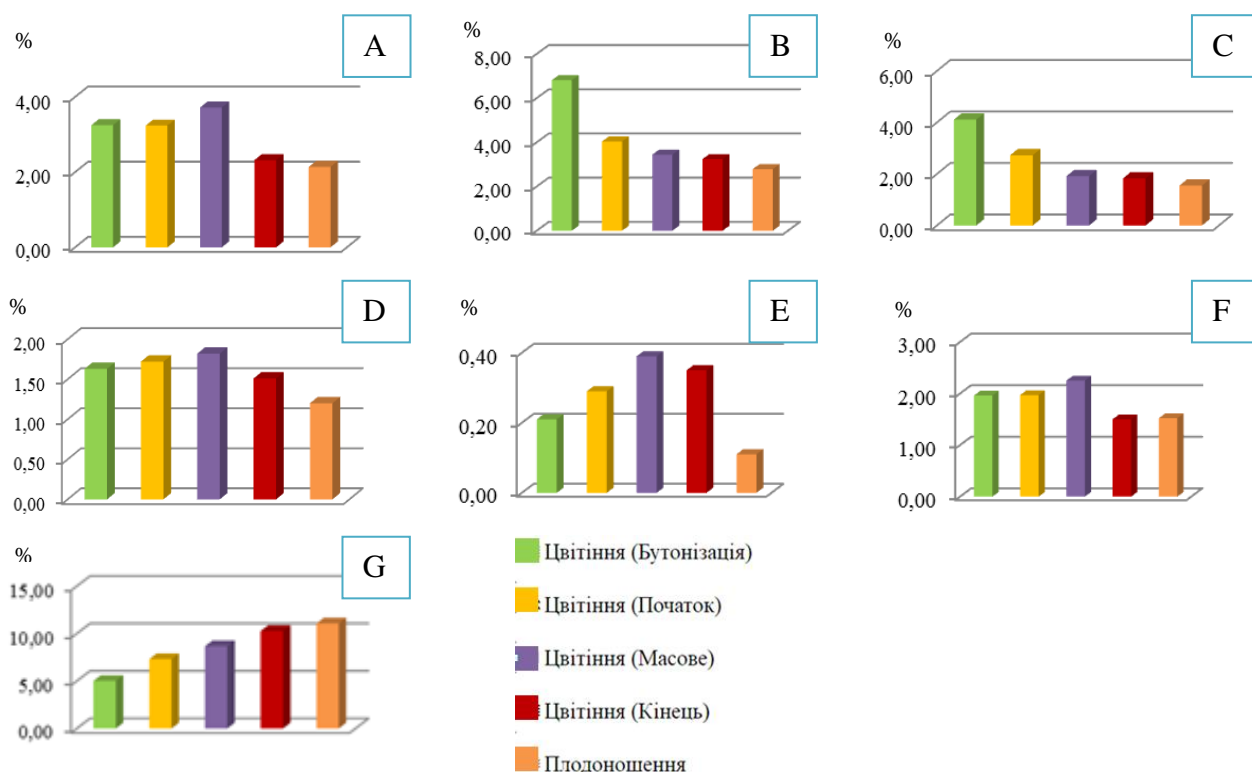


Рис. 3. Динаміка накопичення БАР у воловика лікарському в онтогенезі

А – Окиснювані феноли

В – Сума поліфенолів

С – Таніни

Д – Гідроксикоричні кислоти

Е – Флавоноїди

Ф – Сума органічних кислот

Г – Полісахариди

Отримані екстракти є пухкими порошками від світло-коричневого до зелено-коричневого кольору зі слабким специфічним запахом, вихід яких становить від 20,11 % до 22,61 % залежно від виду екстрагенту (табл. 6).

Таблиця 6

Характеристики сухих екстрактів трави воловика лікарського

Екстракт	Вихід, %	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6				Втрата в масі при висушуванні, % $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6
		Окиснювані феноли	Сума поліфенолів	Гідроксикоричні кислоти	Флавоноїди	
АО-0 (вода очищена)	21,08	6,95± 0,13	8,65± 0,23	5,38± 0,07	1,17± 0,02	4,07 ± 0,16
АО-5 (50 % етанол)	22,61	6,13± 0,16	7,29± 0,09	6,96± 0,02	1,21± 0,02	4,62 ± 0,13
АО-7 (70 % етанол)	20,11	6,98± 0,07	8,32± 0,17	7,97± 0,06	1,37± 0,09	4,88 ± 0,11

За допомогою хроматографічних методів аналізу в досліджуваних екстрактах ідентифіковано розмаринову та кавову кислоти, ізокверцитрин та апігенін.

Визначено, що внутрішньошлункове введення екстрактів воловика лікарського у дозі 5000 мг/кг не призводить до загибелі тварин, а також до морфологічних та функціональних змін в їх організмі, що свідчить про малотоксичність цих екстрактів і дає можливість віднести їх до сполук IV класу токсичності (К. К. Сидоров) – малотоксичні. Дослідження протизапальної дії екстрактів проводили на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів. Одержані дані свідчать, що найбільш виражену антиексудативну активність виявляє екстракт АО-7 (70 % етанол), пригнічуючи запальну реакцію на 17,28 %. Спосіб одержання екстракту воловика лікарського із протизапальною активністю захищено патентом України на корисну модель № 125931 (25.05.2018 р.).

Результати вивчення противиразкової дії екстрактів трави воловика лікарського на моделі гострої спиртово-преднізолонової виразки шлунка у щурів показують, що найбільш виражену дію проявляє екстракт АО-5 (50 % етанол), противиразкова активність якого у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини є на 16 % вищою від впливу препарату порівняння («Альтан», доза – 1 мг/кг маси тіла тварини). Одержані дані щодо антимікробної та антифунгальної дії досліджуваних субстанцій вказують, що ці екстракти у концентрації 100 мг/мл виявляють помірну дію щодо мікроорганізмів групи стрептококів. Найкращу дію щодо β -гемолітичного стрептококу групи G виявляє екстракт АО-7 (70 % етанол).

Результати фармакологічних та мікробіологічних досліджень вказують, що перспективною субстанцією для розробки м'якої лікарської форми є АО-7 (70 % етанол), яка найбільш проявляє протизапальну та антимікробну дію, що забезпечується більшим вмістом фенольних сполук (з переважанням розмаринової кислоти) у порівнянні з АО-5 та АО-0.

Розроблено склад та запропоновано технологію мазі з екстрактом воловика лікарського. Результати досліджень гострої токсичності даного препарату дають підстави віднести мазь з екстрактом воловика лікарського до V класу токсичності (К. К. Сидоров) – практично нетоксичні (доза – 15000 мг/кг маси тіла тварини при нанесенні на шкіру). При нанесенні цієї мазі на раневу поверхню репарація шкірного покриву прискорюється на 30 %, що свідчить про ранозагоювальну дію мазі.

Розділ 5. Ресурсознавчі дослідження, стандартизація сировини та розробка нормативної документації. Для встановлення автентичності видів роду Воловик флори України досліджено морфологічну будову 11 видів – це воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.), воловик високий (*Anchusa procera* Bess.), воловик Гмеліна (*Anchusa Gmelini* Ledeb.), воловик тонколистий (*Anchusa leptophylla* Roem. et Schult.), воловик світло-жовтий (*Anchusa ochroleuca* M. B.), воловик несправжньо-світло-жовтий (*Anchusa pseudoochroleuca* Shost.), воловик італійський (*Anchusa italica* Retz. син. *Anchusa azurea* Mill.), воловик Баррельє (*Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm.), воловик фесалійський (*Anchusa thessala* Boiss. et Sprun.), воловик маленький (*Anchusa pusilla* Gusul.) та воловик довгостовпчиківий (*Anchusa stylosa* M. B.).

Встановлено, що відмінними ознаками вивчених видів є: висота стебла – у воловика високого до 2 м, відносно м'яке опушення у воловика вузьколистого та

воловика Баррельє, глибокоборозенчасте стебло у воловика вузьколистого, сірий колір рослини (від надмірного опушення) у воловика високого, лінійні листки у воловика світло-жовтого та ланцетні – у воловика несправжньосвітло-жовтого, коротша від чашечки трубочка у воловика Баррельє та значно довша (у 2 рази) – у воловика Гмеліна, жовтий віночок у воловика світло-жовтого і воловика несправжньосвітло-жовтого та голубий – у воловика італійського та воловика Баррельє, кутасто-трикутні плоди у воловика італійського, вузькодовгасті – у воловика фесалійського та довгасті – у воловика Баррельє.

Досліджено умови зростання та біологічні запаси воловика лікарського та воловика високого у 4 областях України в межах окремих ареалів. Встановлено, що досліджувані види ростуть переважно в умовах помірного зволоження та відрізняються за відношенням до теплового режиму. Визначено, що зарості воловика високого є значними за щільністю та площею. Встановлений обсяг можливої щорічної заготівлі вказує на достатні сировинні запаси цього виду. Водночас, отримані дані щодо воловика лікарського вказують, що запаси виду є недостатніми для промислової заготівлі, тобто він потребує введення в культуру. Оскільки у воловику лікарському вміст шуканих груп БАР є вищим у порівнянні з воловиком високим, перспективним стає вивчення можливості культивування цього виду. Фенологічні дослідження розвитку воловика лікарського на дослідних ділянках Івано-Франківського національного медичного університету вказують, що він потребує відкритих сонячних місць, є вологолюбивим, але при цьому небажаним є його замокання. Рослина краще росте на щільних нейтральних ґрунтах з рН 6-7.

Для розробки проекту МКЯ «Воловика лікарського трава» проведено порівняльний морфолого-анатомічний аналіз трави воловика лікарського та воловика високого і встановлено їх діагностичні ознаки (табл. 7).

Таблиця 7

Морфолого-анатомічні ознаки досліджуваних видів

Діагностичні ознаки	Види роду <i>Anchusa</i> L.	
	<i>Anchusa officinalis</i> L.	<i>Anchusa procera</i> Bess.
1	2	3
<i>Морфологічні ознаки</i>		
Стебло	30 – 100 см заввишки	100 – 200 см заввишки
	Прямостояче, розгалужене, густо вкрите відстовбурченими щетинками, розміщеними на дрібних білуватих горбочках	
Листки	Довгасто- чи лінійно-ланцетні, цілокраї, по краю трохи хвилясті і нерівнодрібнозубчасті. Сидячі, по краю війчасті, напівстеблообгортні, коротко загострені, з обох боків вкриті білими горбочками на яких розміщені волоски	
Квітки	На дуже коротких, густо опушених, після цвітіння відігнутих донизу квітконіжках, зібрані у короткі густі завійки. Чашечка густоволосиста	
	Чашечка більше, ніж досередини, розділена на загострені частки, при плодах дзвоникоподібна	Чашечка на чверть або до половини надрізана на частки, при плодах яйцеподібна

1	2	3
Квітки	Віночок фіолетовий	
	Трубочка віночка циліндрична, доверху розширена, рівна або незначно довша від чашечки	Трубочка віночка розширена догори майже рівна чашечці
Плоди	Сірувато-бурі, косо-яйцевидні, сітчасто-зморшкуваті і дрібно-горбочкуваті горішки	
	Із складчастим валиком навколо округленого та поглибленого рубчика	Із майже гладеньким валиком навколо рубчика
<i>Анатомічні ознаки</i>		
Епідерміс стебла	Клітини дрібні, розташовані в один шар	
	Клітини витягнуті овально-прямокутні	Клітини витягнуті овальні
Епідерміс листка	Поверхня вкрита кутикулою	
	Клітини верхнього епідермісу із слабохвилястими і рівномірно потовщеними стінками, нижнього – із сильнозвивистими стінками. Вздовж жилок клітини дрібні, в окремих ділянках їх оболонки вервичкоподібнопотовщені. Продихів більше на нижньому епідермісі	
Продиховий апарат	Аномоцитний тип	
Трихоми	Значна кількість	
	Одно- та багатоклітинні прості та залозисті. На верхньому епідермісі листка наявні головчасті волоски, на нижньому – прості залозисті, по краю над жилками розміщені прості волоски, зігнуті у напрямку до верхівки листка	Одноклітинні прості та залозисті
Епідерміс пелюстки	Клітини із сильнозвивистими стінками і тонкою кутикулою. Внутрішня поверхня вкрита густо розташованими конусоподібними сосочками. По всій поверхні наявні типові прості волоски	

Встановлено, що відмінними морфологічними діагностичними ознаками видів є довжина стебла, будова квіток та плодів; анатомічними діагностичними ознаками видів є форма клітин епідермісу стебла та типи волосків.

Анатомічні діагностичні ознаки трави воловика лікарського представлено на рис. 4.

У фрагментах порошку трави воловика лікарського можна ідентифікувати прямостінні клітини верхнього епідермісу листка, звивистостінні з продиховими комплексами аномоцитного типу – нижнього епідермісу, три типи волосків: простий

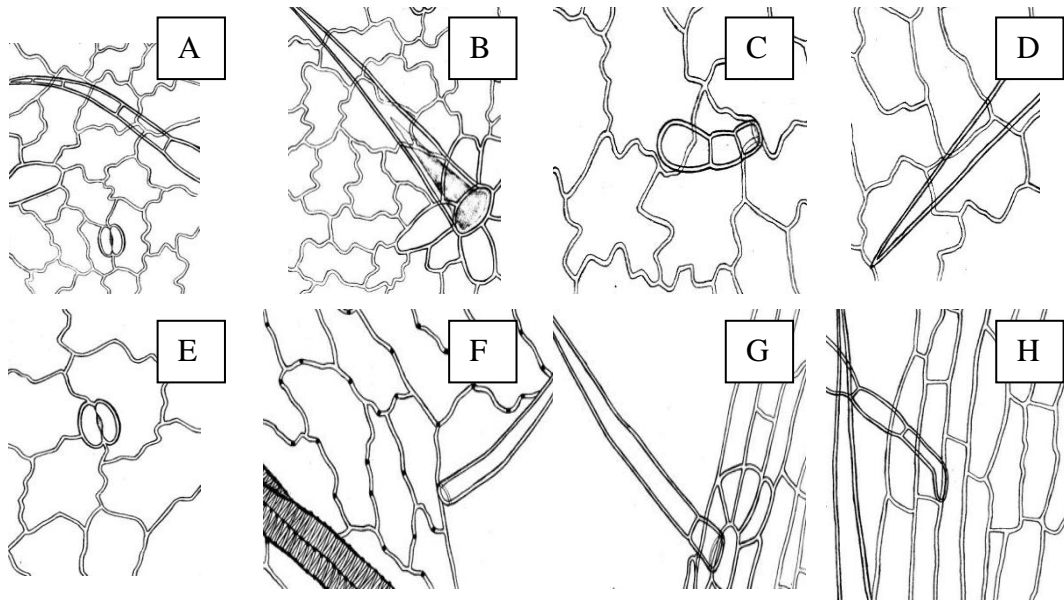


Рис. 4. Діагностичні ознаки воловика лікарського трави

- А – Нижній епідерміс листка із продиховим апаратом та багатоклітинним волоском
- В – Нижній епідерміс листка із залозистим волоском з припіднятою над поверхнею епідерми основою
- С – Верхній епідерміс листка із головчастим волоском
- Д – Верхній епідерміс листка із простим волоском
- Е – Верхній епідерміс листка із продиховим апаратом
- Ф – Епідерміс пелюстки біля жилки
- Г – Епідерміс стебла з простим волоском
- Н – Видовжено прямокутні клітини епідермісу стебла

головчастий та залозистий, сосочки внутрішнього епідермісу пелюстки та звивистостінні клітини пелюстки.

За результатами проведеного фітохімічного вивчення трави воловика лікарського обґрунтовано параметри стандартизації сировини за фенольними сполуками, а саме гідроксикоричними кислотами. Експериментально встановлено, що вміст гідроксикоричних кислот у сировині повинен становити не менше 1,3 %, втрата в масі при висушуванні – не більше 11 %, загальна зола – не більше 16 % (за рахунок значної опушеності сировини), сторонніх домішок (пожовтілих, побурілих частин сировини) – не більше 5 % та інших сторонніх домішок – не більше 2 %.

З метою встановлення терміну придатності трави воловика лікарського зразки сировини зберігали в сухому приміщенні при температурі 18 – 20 °С впродовж 2012 – 2017 рр., проводячи її товарознавчий аналіз та моніторинг за вмістом БАР (гідроксикоричні кислоти) кожні 6 місяців. За результатами аналізу встановлено термін придатності трави воловика лікарського – 3 роки.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукових завдань, які полягають у пошуку джерел БАР рослинного походження для створення нових лікарських засобів. Встановлено якісний склад і кількісний вміст груп БАР рослин роду Воловик, одержано екстракт та лікарську форму на його основі, досліджено їх фармакологічну активність, визначено можливості для забезпечення сировинної бази, розроблено проекти МКЯ на сировину та одержаний екстракт.

1. В результаті проведеного фітохімічного аналізу у траві та коренях воловика лікарського і воловика високого ідентифіковані фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти.

2. Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено 20 сполук, які ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей – це 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли та 1 азотовмісна сполука.

3. Вперше методом ВЕРХ у сировині воловика лікарського ідентифіковано та визначено вміст 14 сполук, з них: 3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів. Встановлено, що домінуючою сполукою серед ідентифікованих гідроксикоричних кислот у траві та коренях воловика лікарського є розмаринова кислота – 4558,86 мг/кг (0,46 %) та 1964,66 мг/кг (0,2 %) сухої сировини відповідно, серед ідентифікованих флавоноїдів переважаючою сполукою у траві воловика лікарського є ізокверцитрин – 256,0 мг/кг (0,03 %), у коренях – апігенін – 389,54 мг/кг (0,04 %) сухої сировини, танінів – епігалокатехін – 21864,28 мг/кг (2,2 %) та 29850,06 мг/кг (3,0 %) сухої сировини відповідно.

4. Вперше методом ГХ/МС у траві воловика лікарського ідентифіковано 7 жирних кислот: 2 поліненасичені – ліолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова; 4 фітостероли: ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол, стигмастерол та 12 сполук легкої фракції: спирти – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, альдегіди – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, кетони – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, аліфатичний вуглеводень – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен. Переважаючою речовиною серед жирних кислот у траві воловика лікарського є ліноленова кислота – 2696,36 мг/кг (0,27 %), серед фітостеролів – ситостерол – 133,08 мг/кг, серед сполук легкої фракції – монотерпеновий фенол – тимол – 29,81 мг/кг та похідне сесквітерпену – гексагідрофарнезилацетон – 27,67 мг/кг сухої сировини.

5. Вперше методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії встановлено елементний склад трави та коренів воловика лікарського і воловика високого та визначено вміст 19 макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині виявлено значний вміст кальцію – 8111,18 – 8134,10 мг/кг та магнію – 1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

6. Вперше визначено кількісний вміст груп БАР у траві та коренях воловика лікарського та воловика високого. Встановлено, що сировина досліджуваних видів містить від 1,85 % до 3,53 % окиснюваних фенолів, 1,39 – 2,39 % органічних кислот, 2,23 – 3,81 % суми поліфенолів, 1,01 – 2,14 % танінів, 0,21 – 0,45 % флавоноїдів, 1,09 – 2,19 % гідроксикоричних кислот, 0,71 – 8,40 % полісахаридів, 0,77 – 4,12 % слизу. Встановлено, що кількісний вміст груп БАР більше відрізняється за видами сировини і менше – за місцем зростання видів. Вперше з воловика лікарського виділено фракції водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлози А і Б. Вміст водорозчинних полісахаридів у траві та коренях рослини становить 8,24 % та 0,72 %, пектинових речовин – 4,27 % та 0,14 %, геміцелюлози А – 32,29 % та 12,26 %, геміцелюлози Б – 6,09 % та 4,42 % від маси сухої сировини відповідно, що свідчить про значну відмінність вмісту фракцій вуглеводів у надземних та підземних органах воловика лікарського.

7. Розроблено технологічні параметри екстракції БАР з трави воловика лікарського та проведено скринінгове дослідження фармакологічних ефектів отриманих екстрактів. Встановлено, що екстракти трави воловика лікарського є нетоксичними та виявляють протизапальну, противиразкову та антимікробну дію (патент України № 125931 від 25.05. 2018 р.). Розроблено склад та технологію мазі з екстрактом трави воловика лікарського. Встановлено, що одержана лікарська форма є нетоксичною та виявляє ранозагоювальну дію.

8. Встановлено місця зростання воловика лікарського та воловика високого в 4 областях: Івано-Франківській, Тернопільській, Закарпатській та Одеській. Вивчено виявлені фітоценози та визначено сировинні запаси видів. Встановлений обсяг можливої щорічної заготівлі вказує на достатні сировинні запаси воловика високого та недостатні для промислової заготівлі запаси воловика лікарського. Встановлено основні параметри інтродукції воловика лікарського на дослідних ділянках.

9. Вивчено числові показники доброякісності трави воловика лікарського та встановлено параметри стандартизації сировини: втрата в масі при висушуванні – не більше 11 %, вміст загальної золи – не більше 16 %, сторонніх домішок (пожовтілих, побурілих частин сировини та інших сторонніх домішок) – не більше 5 % та 2 % відповідно, вміст гідроксикоричних кислот у сировині повинен становити не менше 1,3 %. Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження видів роду Воловик. Встановлено, що морфологічними діагностичними ознаками є довжина стебла, колір та будова квіток і плодів. Анатомічними діагностичними ознаками є форма клітини епідермісу стебла та типи волосків.

10. На основі моніторингу показників якості сировини встановлено термін придатності трави воловика лікарського – 3 роки. За результатами проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та проект інструкції із заготівлі та сушіння трави воловика лікарського.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Грицик А. Р., Свірська С. П. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. №3. С. 174–181. (Особистий внесок – проведення пошуку літературних даних, обробка матеріалу та написання статті).
2. Грицик А. Р., Свірська С. П. Доказова фармація: дослідження екстракту трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, №. 2 (75), додаток. С. 93–94. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
3. Грицик А. Р., Свірська С. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Фармаком*. 2016. №3, додаток. С. 117–123. (Особистий внесок – планування, проведення та інтерпретація даних експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
4. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження умов зростання *Anchusa officinalis* L. та *Anchusa procera* Bess. у деяких регіонах України. *Фармаком*. 2018. №1. С. 77–81. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
5. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження вуглеводів воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, №2 (75). С. 45–50. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).
6. Svirskaya S., Grytsyk A. Investigation of tannins in *Anchusa officinalis* L. *The Pharma Innovation*. 2018. Vol. 7., Issue 4. P. 758–761. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).
7. Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю: пат. № 125931 України: МПК (2018.01), А61К 36/00, А61Р 29/00. / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Л. М. Грицик. № u 2018 00391; заявл. 15.01.2018; опубл. 25.05.18, бюл. № 10. (Особистий внесок – проведення патентного пошуку, планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та оформлення патенту).
8. Грицик А. Р., Свірська С. П. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія. Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г. М., 2017. 109 с. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, підготовка та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання монографії).
9. Грицик А. Р., Свірська С. П., Козак Т. І. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції. *Фітоанітерація: здобутки і перспективи*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, Ужгород, 20–21 квітня 2012 р. Ужгород, 2012. С. 267–269. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

10. Свірська С. П., Грицик А. Р. Фенологічні спостереження за розвитком воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) на дослідних ділянках лікарських рослин кафедри фармації ІФНМУ. *Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції, Полтава, 26-27 грудня 2017 р. Полтава, Лубни: Комунальне видавництво «Лубни», 2018. С. 105–107. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

11. Grytsyk A., Svirskia S. The ways of application of Bugloss genus plants in folk medicine. *Aktualne problemy nowoczesnych nauk: materiały VIII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji*. Vol. 38, Medycyna, Przemysł, 07-15 czerwca 2012 roku. Przemysł: «Nauka i studia», 2012. Str. 29–30. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка матеріалу та написання статті).

12. Svirskia S. Systematics and morphology of *Anchusa* genus plants. *Modern science in Eastern Europe: proceedings of XIII International scientific conference*. Dec 22, 2017, Morrisville, USA: Universum. Morrisville, 2017. P. 95–99.

13. Нормування біофармацевтичних аспектів розробки препаратів на основі рослинної сировини / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. Г. Стасів, Н. І. Ференц. *Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування*: матеріали науково-практичної інтернет-конференції. Харків: Вид-во НФаУ, 2011. С. 3. (Особистий внесок – проведення досліджень, обробка матеріалу та написання тез).

14. Свірська С. П. Макроскопічний, мікроскопічний та товарознавчий аналіз трави воловика лікарського. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених*: тези доповідей 81-ої науково-практичної конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 29–30 березня 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 218–219.

15. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця, 17–18 квітня 2012 р., Вінниця, 2012. С. 98.

16. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протидіабетичною дією. *Інновації в медицині*: тези доповідей 82-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 18–19 квітня 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 233–234.

АНОТАЦІЯ

Свірська С. П. Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, МОЗ України, Львів, 2019.

Дисертаційну роботу присвячено фармакогностичному дослідженню видів роду Воловик, а саме: воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) та воловика високого (*Anchusa procera* Bess.). За допомогою хімічних та фізико-хімічних методів

дослідження, встановлено якісний склад і кількісний вміст груп БАР рослин роду Воловик. У сировині виявлено фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди, карбонові кислоти, макро- та мікроелементи. Методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено та ідентифіковано 20 сполук: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдну сполуку, 2 хлорофіли та 1 азотовмісну сполуку. Розроблено технологічні параметри отримання екстрактів із трави воловика лікарського, запропоновано склад та технологію мазі з екстрактом воловика лікарського та досліджено їх фармакологічну активність. Досліджено сировинні запаси видів та визначено можливість інтродукції воловика лікарського для забезпечення сировинної бази; розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та проект інструкції із заготівлі та сушіння трави воловика лікарського.

Ключові слова: воловик лікарський, воловик високий, біологічно активні речовини, екстракт, фармакологічна дія.

АННОТАЦІЯ

Свирская С. П. Фармакогностическое исследование растений рода Воловик. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, МЗ Украины, Львов, 2019.

Диссертация посвящена фармакогностическому исследованию видов рода Воловик, более детальному: воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) и воловика высокого (*Anchusa procera* Bess.). С помощью химических и физико-химических методов исследования, установлены качественный состав и количественное содержание групп БАВ растений рода Воловик. В сырье выявлены фенольные соединения, углеводы, тритерпеноиды, стероиды, карбоновые кислоты, макро- и микроэлементы. Методом адсорбционной хроматографии на силикагеле и полиамидном сорбенте из травы воловика лекарственного выделены и идентифицированы 20 соединений: 3 фенолкарбоновые кислоты, 3 гидроксикоричные кислоты, 6 флавоноидов, 4 тритерпеноида, 1 стероидное соединение, 2 хлорофилла и 1 азотосодержащее соединение. Разработаны технологические параметры получения экстрактов из травы воловика лекарственного, разработаны состав и технология мази с экстрактом воловика лекарственного и исследована их фармакологическая активность. Исследованы сырьевые запасы видов и определены возможности интродукции воловика лекарственного для обеспечения сырьевой базы; разработаны проекты МКК «Воловика лекарственного трава», «Воловика лекарственного экстракт сухой» и проект инструкции по заготовке и сушке травы воловика лекарственного.

Ключевые слова: воловик лекарственный, воловик высокий, биологически активные вещества, экстракт, фармакологическое действие.

ANNOTATION

Svirska S. Pharmacognostic investigation of Anchusa genus species. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

Thesis for a candidate degree of sciences in pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2019.

Thesis is devoted to the complex pharmacological investigation of *Anchusa* genus species, namely *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. Using the chemical and physico-chemical methods, the composition and content of biologically active substances of *Anchusa* genus species were established and phenolic compounds, carbohydrates, triterpenoids, steroids, carboxylic acids, macro- and microelements were detected.

Using adsorption chromatography on silica gel and polyamide sorbent in *Anchusa officinalis* L. herb 20 compounds were detected and identified: 3 phenolcarboxylic acids, 3 hydroxycinnamic acids, 6 flavonoids, 4 triterpenoids, 1 steroid, 2 chlorophylls and 1 nitrogen-containing compound.

Using high-performance liquid chromatography in *Anchusa officinalis* L. herb and roots 14 compounds, namely 3 hydroxycinnamic acids, 4 flavonoids and 7 tannins, were identified and their content was set. It was established that the dominant substance among hydroxycinnamic acids in *Anchusa officinalis* L. herb and roots is rosmarinic acid – 4558.86 mg / kg (0,46 %) and 1964.66 mg / kg (0,2 %) of dry raw material respectively, among flavonoids in *Anchusa officinalis* L. herb – isoquercitrin – 256.0 mg / kg dry raw material, roots – apigenin – 389.54 mg / kg of dry raw material, tannins – epigallocatechin – 21864,28 mg / kg (2,2 %) and 29850,06 mg / kg (3,0 %) of dry raw material respectively.

Using the method of gas chromatography with mass spectrometry in *Anchusa officinalis* L. herb 7 fatty acids, 4 phytosterols and 12 compounds of volatile fraction were identified. The total content of fatty acids was 0.8 % of dry raw material. The dominant substance among the fatty acids of *Anchusa officinalis* L. herb is linoleic acid – 2696.36 mg / kg (0.27%), phytosterols – sitosterol – 133.08 mg / kg, compounds of volatile fraction – monoterpene phenol – thymol – 29.81 mg / kg and sesquiterpene derivative – hexahydrofarnesylacetone – 27.67 mg / kg of raw material.

Using the method of atomic absorption spectrophotometry 19 macro- and micronutrients in *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. herb and roots were detected. The content of heavy metals was within the permitted limits (SPhU 2.0).

The content of groups of biologically active substances in *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. herb and roots was determined. They contain 1,85 % – 3,53 % of oxidized phenols, 1,39 – 2,39 % of organic acids, 2,23 – 3,81 % of the sum of polyphenols, 1,01 – 2,14 % of tannins, 0,21 – 0,45 % of flavonoids, 1,09 – 2,19 % of hydroxycinnamic acids, 0,71 – 8,40 % of polysaccharides, 0,77 – 4,12 % of mucus.

The fractions of water-soluble polysaccharides, pectic substances, hemicellulose A and B were isolated from *Anchusa officinalis* L. herb and roots. There are 8.24 % and 0.72 % of water-soluble polysaccharides in the herb and roots of the plant, pectic substances – 4.27 % and 0.14 %, hemicellulose A – 32.29 % and 12.2 %, hemicellulose B – 6.09 % and 4.42 % of dry raw materials, respectively.

The aqueous and hydroalcoholic extracts from *Anchusa officinalis* L. herb were obtained. These extracts are found to be non-toxic and have anti-inflammatory, anti-ulcer and antimicrobial effects. The novelty of the conducted research is protected by the Ukrainian patent on the utility model No. 125931 “The method of obtaining of *Anchusa officinalis* L. extract with anti-inflammatory activity”. The composition and technology of the ointment with *Anchusa officinalis* L. extract were proposed. This ointment is found to be non-toxic and has the wound-healing effect.

The places of *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. growth and resources of plant raw materials, as well as the conditions of *Anchusa officinalis* L. introduction were established.

The comparative morphological and anatomical study of *Anchusa* genus species was conducted. It is established that the distinguishing morphological diagnostic features of the species are the length of the stem, the structure of flowers and seeds. The anatomical diagnostic features of the species are the shape of the stem epidermis cells and the types of trichomes.

The parameters of standardization of *Anchusa officinalis* L. herb were established: the loss in weight on drying – not more than 11 %, total ash content – not more than 16 %, impurities (yellowed, browned parts of raw materials and other impurities) – not more than 5 % and 2 %, respectively, the content of hydroxycinnamic acids should be at least 1,3 %. The shelf life of the *Anchusa officinalis* L. herb is determined – 3 years.

The projects of Methods of quality control «*Anchusa officinalis* L. herb» and «*Anchusa officinalis* L. herb dry extract», instruction on harvesting and drying of *Anchusa officinalis* L. herb were developed.

Keywords: *Anchusa officinalis* L., *Anchusa procera* Bess., biologically active substances, extract, pharmacological effect.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	–	біологічно активні речовини;
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія;
ГХ/МС	–	газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФУ	–	Державна Фармакопея України;
МКЯ	–	Методи контролю якості;
ПХ	–	паперова хроматографія;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія.

